

I fitofarmaci di origine vegetale Cenni storici, attualità e prospettive di sviluppo

H. TSOLAKIS

Dipartimento di Scienze Entomologiche, Fitopatologiche, Microbiologiche agrarie e Zootecniche (S.EN.FI.MI.ZO.), Università degli Studi di Palermo, Viale delle Scienze, 13 Palermo 90128
 tsolakis@unipa.it

Riassunto

I fitofarmaci di origine vegetale, insieme a quelli inorganici, hanno rappresentato per oltre mezzo secolo il controllo chimico degli organismi fitofagi. A partire dagli anni '40 sono stati rapidamente sostituiti con successo dai fitofarmaci di sintesi che hanno saturato il mercato mondiale della difesa delle colture agrarie. Negli ultimi vent'anni si è assistito ad un progressivo aumento della domanda di prodotti di origine vegetale sia a causa dei problemi causati dall'abuso dei fitofarmaci di sintesi alla salute umana e all'ambiente, che per il costante aumento delle superfici agricole coltivate con il metodo dell'agricoltura biologica. Nel presente lavoro vengono affrontate le problematiche legate allo sviluppo di fitofarmaci di origine vegetale e prese in considerazione alcune essenze vegetali che presentano caratteristiche compatibili con lo sviluppo industriale di fitofarmaci vegetali.

Parole chiave: Fitofarmaci vegetali, *Annona*, *Melia*, *Artemisia*, *Citrus*.

Abstract

Botanical pesticides: historical notes, news and opportunity of development

Botanical and inorganic pesticides have represented materials used in the chemical control of agricultural pests in the first half of the past century. After the 2nd world war, they were rapidly and successfully replaced by synthetic organic pesticides. In the last two decades a progressive increase of demand of botanical pesticides was registered, due both to the problems on the human health and the negative influence on the environment caused by the abuse of chemicals and to the constant increase of the Organic Agriculture crops. In the present paper the different problems related with the future of the development of botanical pesticides are discussed; further on some botanical species having features industrially exploitable are also mentioned.

Key words: Botanical pesticides, *Annona*, *Melia*, *Artemisia*, *Citrus*.

10.1. INTRODUZIONE

Con l'avvento della moderna agricoltura, sul finire del 19° secolo, la difesa delle colture agrarie dai parassiti venne affidata in buona parte al controllo biologico e in parte ai fitofarmaci che in quell'epoca appena si affacciavano nel mercato. I primi fitofarmaci utilizzati in agricoltura erano principalmente composti inorganici dell'arsenico (arseniato di piombo e di calcio), miscele solfocalciche (polisolfuri di calcio e di bario), composti del mercurio e del fluoro, derivati nitrici (dinitroortocresoli), oli minerali sottoprodotti dell'industria petrolifera, sostanze di origine vegetale (nicotina, piretro, rotenone) etc.

L'aumento delle superfici coltivate e la difficoltà di controllare alcune specie di fitofagi con la lotta biologica, hanno indirizzato i ricercatori del settore ad intensificare le ricerche per scoprire nuovi insetticidi da utilizzare nella difesa delle colture agrarie.

10.2. CENNI STORICI

Negli anni '40 del secolo scorso, Roark (1947) sosteneva che le ragioni per cercare nuovi pesticidi nel regno vegetale o comunque di origine naturale erano principalmente quattro:

1. combattere i fitofagi che non potevano essere controllati con altre tecniche;
2. eliminare i prodotti chimici nocivi nei confronti dell'uomo;
3. trovare sostituti per i fitofarmaci esistenti;
4. provvedere ad aumentare il ridotto numero di prodotti, allora, esistente.

Queste raccomandazioni sono state per buona parte disattese. Si è, infatti, cercato di fornire risposte al principale bisogno, che era quello della difesa, con la sintesi di nuove molecole con forte attività insetticida. A partire dal dopoguerra, infatti, e per almeno un ventennio, il controllo dei fitofagi delle colture agrarie si è basato, prevalentemente e con successo, sull'uso di prodotti chimici di sintesi (clororganici, fosfororganici e carbammati).

Le ragioni dell'affermazione dei fitofarmaci di sintesi, sono principalmente le seguenti:

1. il basso costo di produzione;
2. la facilità d'uso;
3. l'effetto immediato;
4. la lunga persistenza d'azione.

Per questi motivi il mercato dei fitofarmaci ha avuto un notevole sviluppo, raggiungendo il suo apice negli anni Settanta. Solo negli Stati Uniti, in questo periodo, venivano utilizzate annualmente circa 450.000 tonnellate di insetticidi (McEwen, 1977).

Ben presto, però, si notarono gli effetti deleteri di questi prodotti, per la

loro azione negativa sulla salute degli operatori agricoli (tossicità acuta) (Spear *et al.*, 1975) e per la rottura dell'equilibrio naturale dei sistemi dove essi venivano impiegati.

Diversi studiosi, comunque, consapevoli del pericolo insito delle molecole di sintesi, continuavano a mettere in guardia gli operatori del settore e a proporre valide alternative all'abuso di fitofarmaci di sintesi (Crosby, 1971; Chapman, 1974; Onillon, 1974; Brown, 1974; Benham, 1974; Viggiani & Iannaccone, 1973).

Ormai sono noti, per molti composti di sintesi, gli effetti cancerogeni e immunodepressivi nei confronti di diversi vertebrati compreso l'uomo (Murphy, 1986), così come è nota la presenza di ceppi di fitofagi resistenti alla maggior parte dei prodotti chimici di sintesi esistenti in commercio (Brader, 1977). A questi effetti negativi, inoltre, si possono aggiungere gli effetti deleteri della maggior parte di questi prodotti nei confronti degli insetti utili, l'effetto acarostimolante di alcuni carbammati e l'insorgenza di massicce infestazioni di specie fitofaghe che prima non procuravano danni economici.

10.2.1. L'evoluzione della domanda di fitofarmaci di origine vegetale nei paesi occidentali

Gli effetti negativi dei fitofarmaci di sintesi sulla salute umana e nei confronti dell'ambiente, associati alla sempre crescente attenzione dei consumatori sulla salubrità dei prodotti agricoli, hanno portato, nei paesi occidentali, a una progressiva diminuzione dell'uso di sostanze chimiche di sintesi. Negli U.S.A., il consumo medio annuale di fitofarmaci è passato dalle 450.000 tonnellate degli anni '70 a circa 100.000 tonnellate negli anni '90 (FAO, 1997). Un simile andamento si è verificato anche in Italia (dalle 52.000 tonnellate negli anni '80, alle 33.000 tonnellate nel 2003) (ISTAT, 2003).

Alla diminuzione di consumo di fitofarmaci a vasto spettro d'azione, corrisponde da una parte la messa a punto di metodologie di controllo alternative e dall'altra la ricerca per l'individuazione di nuove sostanze a basso impatto ambientale in grado di controllare le popolazioni di fitofagi divenute resistenti agli insetticidi convenzionali. Questi prodotti, inibitori della chitina, ormonosimili e regolatori di crescita, sono generalmente meno tossici per l'uomo ma la loro selettività nei confronti degli artropodi utili è stata spesso messa in discussione (Angeli *et al.*, 2000; Bortolotti *et al.*, 1999; Hassan *et al.*, 1991; Mendel *et al.*, 1994; Viggiani & Loia, 1991).

Nella difesa delle colture agrarie, quindi, si inizia ad orientarsi sempre più spesso verso l'adozione di metodologie di controllo a basso impatto ambientale come il Controllo biologico o il Controllo Integrato. In altri casi gli agricoltori si sono indirizzati verso quei processi produttivi, nei quali è assolutamente vietato l'uso di sostanze chimiche di sintesi, come l'Agricoltura biologica (AB). Quest'ultima ha avuto un notevole

incremento delle sue superfici nell'ultimo ventennio nei paesi occidentali ed in Europa in particolare, dovuto da un lato al costante aumento della domanda di prodotti agricoli biologici da parte dei consumatori e dall'altro per gli aiuti economici che i diversi Governi occidentali elargivano agli agricoltori che adottavano queste tecniche di coltivazione (regolamento CEE 2092/91). Attualmente la superficie coltivata in biologico in Europa rappresenta il 3,5% della SAU, corrispondente a 5,7 milioni di Ha, mentre in Italia la superficie agricola a conduzione biologica è passata da 91.500 Ha nel 1993 (MIRAAF, 1998) a 1.052.002 Ha nel 2003 (MIPAF, 2004).

I primi operatori del settore hanno dovuto affrontare il problema del reperimento sia di notizie attendibili circa l'efficacia di essenze vegetali nei confronti dei principali fitofagi che dovevano combattere, che le essenze vegetali stesse. Inizialmente i preparati vegetali venivano creati in azienda (macerati di ortica, di equisetto, di assenzio, ecc.) con conseguenti problemi di efficacia dei trattamenti perché la concentrazione delle sostanze attive non poteva essere valutata e l'acqua non rappresenta sempre il migliore solvente per l'estrazione di sostanze biocide (Merz, 1987).

Si è creata, quindi, negli ultimi vent'anni, nei paesi occidentali, una considerevole domanda di fitofarmaci di origine vegetale che alcune case farmaceutiche hanno cercato di colmare con il piretro, estratto dai capolini di *Chrysanthemum cinerariaefolium* Benth. & Hook. e il rotenone, estratto dalle radici di alcune leguminose tropicali (*Derris elliptica* (Wall.), *Lonchocarpus* spp. e *Tephrosia* sp.). Entrambi i prodotti costituivano nell'immediato dopoguerra i principali fitofarmaci utilizzati nella difesa delle colture. Il loro declino iniziò negli anni '60 a causa dell'immissione in commercio dei clororganici e degli esteri fosforici. Negli USA ad esempio, nel 1947, venivano importate 6.700 tonnellate di *D. elliptica*, mentre nel 1963 l'importazione era scesa a 1.500 tonnellate (Wink, 1993). La scelta di questi due prodotti si basava sul fatto che erano gli unici, negli anni '80 e '90, in grado di fornire una risposta simile a quella dei fitofarmaci di sintesi, essendo entrambi prodotti a vasto spettro d'azione e potevano far fronte, dal punto di vista quantitativo, alla domanda del mercato.

10.2.2. L'evoluzione della domanda di fitofarmaci di origine vegetale nel resto del mondo

Nei paesi africani, asiatici nonché in qualche paese dell'America latina si è arrivati oggi ad una situazione simile a quella dei paesi occidentali, attraverso percorsi diversi. In vari paesi in via di sviluppo, in particolare africani e sudamericani, con particolare vocazione per alcune colture importanti per l'occidente (Caffé, Thé, Cacao, Banane, Riso etc.), si era arrivati ad impegnare nel campo agricolo grandi risorse economiche che promettevano un interessante sviluppo locale. Questo sviluppo era

particolarmente promettente in particolare dove, come ad esempio la fascia umida sub Sahariana, le aziende non erano in mano alle multinazionali ma ad imprenditori agricoli medio-piccoli.

La crisi economica che ha colpito questi paesi negli anni '80, ha portato ad una diminuzione dei sussidi Governativi verso l'agricoltura e ad una forte svalutazione delle monete nazionali con conseguente aumento dei prezzi dei prodotti di sostegno all'agricoltura: fertilizzanti e fitofarmaci in particolare. Gli agricoltori di questi Paesi si sono trovati in poco tempo privi di mezzi che sino ad allora erano indispensabili per il buon fine del ciclo produttivo e costretti a trovare strategie alternative al controllo chimico con i pesticidi di sintesi. Si sono rivolti, quindi, in piccola parte alle tecniche di controllo biologico, a causa di mancanza di tecnici e di conoscenze ed in buona parte alle conoscenze locali sulle proprietà officinali di alcune essenze vegetali del luogo, in grado di svolgere attività insetticida (Coulibaly *et al.*, 2002). Questi estratti, che a volte venivano mescolati con una piccola parte di insetticida di sintesi, in breve tempo sostituirono egregiamente i fitofarmaci di sintesi, tanto da destare l'interesse scientifico di alcuni centri di assistenza e ricerca agricola locali che hanno cominciato a studiare il fenomeno ed a proporre strategie diverse di sviluppo.

In questi paesi è stata, quindi, adottata, da una parte una strategia a breve termine che consiste nel mettere insieme le conoscenze popolari sulle proprietà delle piante officinali indigene e dall'altra prove in vitro effettuate da centri di assistenza locali per individuare le piante con i principi attivi più promettenti (Boeke *et al.*, 2004). Queste strategie mirano principalmente all'acquisizione di informazioni per risolvere l'immediato problema della penuria di fitofarmaci di sintesi piuttosto che all'affrancazione dalla dipendenza all'economia occidentale. Vengono, quindi, adottate tecniche di estrazione semplici, in modo da essere eseguite con facilità a livello aziendale (es. macerati in acqua di parti vegetali fresche od essicate).

In altri paesi (es. Cuba) che affrontano, per motivi diversi, la penuria di fitofarmaci di sintesi, è stata messa in atto una strategia a due velocità. La prima ha lo scopo di fornire nell'immediato, "accettabili" tecnicamente, sostituti dei fitofarmaci di sintesi, mentre la seconda, di medio-lungo termine, mira all'identificazione di sostanze chimiche responsabili dell'azione tossica con lo scopo di fornire nel futuro prodotti maggiormente concentrati ed efficaci (De Cupere *et al.*, 2001).

10.3. RICERCA SCIENTIFICA E PROSPETTIVE DI SVILUPPO

Questi avvenimenti dell'ultimo mezzo secolo hanno portato all'attuale bisogno di risposte alternative al controllo chimico con prodotti di sintesi e al conseguente aumento della domanda di fitofarmaci di origine

vegetale a livello mondiale. Risulta altrettanto ovvio che alla base di possibili soluzioni a questa esigenza si trova la ricerca scientifica.

Come si evince dalla letteratura le ricerche scientifiche, a partire dagli ultimi decenni dell'Ottocento, sono state limitate fino agli anni sessanta ed hanno raggiunto il culmine, per il costante aumento dell'interesse scientifico per l'argomento, negli anni ottanta.

Analizzando la distribuzione delle pubblicazioni scientifiche sull'argomento, nel mondo, si nota che oltre il 60% delle ricerche sulle essenze vegetali ad attività biocida si sono svolte nell'ultimo secolo non in un paese occidentale, bensì in India.

Negli USA, la ricerca in questo settore inizia a svilupparsi a partire dagli anni settanta, raggiunge l'apice nella prima metà degli anni ottanta e subisce una diminuzione negli anni novanta. Questa riduzione, comunque, sembra più legata ad un orientamento della ricerca verso l'identificazione e l'evoluzione delle molecole presenti negli estratti vegetali piuttosto che ad un abbandono di questo settore di ricerca (Hedin *et al.*, 1997). A partire dagli anni '90, infatti, si è registrato un grande interesse per l'argomento, non solo degli Istituti di ricerca accademica, ma anche delle industrie farmaceutiche.

Le ragioni per potenziare, oggi, la ricerca di nuovi fitofarmaci possono essere così riassunte:

- la necessità di fornire agli agricoltori adeguati prodotti per la lotta ai parassiti delle colture; il numero di nuove molecole immesse nel mercato, infatti, è di gran lunga inferiore al numero di quelle nel frattempo eliminate (Isman, 1995). In Italia si è passati dai 106 principi attivi ad azione insetticida-acaricida del 1990 agli 86 di oggi (Muccinelli, 1990; 2004);
- trovare principi attivi con bassa tossicità nei confronti degli animali omeotermi;
- individuare fitofarmaci selettivi;
- trovare principi attivi che non lascino residui nell'ambiente.

La chimica ha dimostrato nell'ultimo secolo di essere in grado di sintetizzare migliaia di molecole con attività biocida. D'altra parte le piante vantano un'esperienza evolutiva di circa 400 milioni di anni. In questo periodo c'è stata una coevoluzione tra piante ed insetti e si è arrivati ad un equilibrio generale dove chi subisce l'attacco, spesso, non mira all'eliminazione dell'avversario ma al controllo delle sue popolazioni. Questo tipo di strategia evolutiva ha portato alla biosintesi di numerose molecole, presenti, di solito a basse concentrazioni nella pianta, capaci di provocare disturbi o in alcuni casi la morte di piccoli artropodi che in qualche modo le ingeriscono. Gli artropodi, d'altra parte, hanno sviluppato, in alcuni casi, processi di neutralizzazione di alcune di queste molecole e in altri casi la capacità di riconoscere certe specie di piante dall'odore da esse emanato ed evitare di nutrirsi su queste, perché contengono sostanze che possono essere dannose per il loro metabolismo.

L'evoluzione biochimica di alcune molecole, presenti nei vegetali, che posseggono una qualche attività biologica nei confronti di diverse specie di artropodi è stata dimostrata di recente (Gang *et al.*, 1997). Le lignine, ad esempio, sono composti presenti in moltissime specie di Angiosperme e presentano attività biologica su diverse specie di insetti e provengono dal pinoresinolo e dal lariciresinolo presenti nelle piante poco evolute e nelle Gimnosperme. In modo simile, gli isoflavonoidi, famiglia di molecole famose per la presenza nel gruppo del rotenone, provengono dall'enzima isoflavone reduttasi.

Di solito non è una singola molecola ad avere l'attività biologica desiderata, ma l'azione combinata di diverse molecole. In tal modo si ottiene quello che possiamo definire come “*equilibrio sinergico*” che esercita la sua azione nei confronti di alcune specie di artropodi (Berenbaum, 1985). La validità ecologica di questa strategia risiede nel fatto che risulta più difficile per le specie fitofaghe neutralizzare un gruppo di molecole che agiscono insieme piuttosto che una singola molecola (Feng & Isman, 1995). Un altro motivo della validità di questa strategia adottata dalle piante è legato a quella che si può definire “*strategia contentiva*”, che non mira cioè all'eliminazione dell'avversario, ma al contenimento delle sue popolazioni. In questo modo la pressione selettiva è bassa e non permette, almeno in breve tempo, la formazione di ceppi resistenti.

Lo sviluppo di prodotti ecocompatibili per difesa delle colture agrarie potrebbe, quindi, basarsi su:

- Miscele di molecole ad azione sinergica che non mirano alla distruzione delle popolazioni del fitofago ma al loro contenimento;
- Miscele o singole molecole ad azione repellente in grado di tenere lontane le popolazioni fitofaghe dalle colture agrarie.

Molto spesso negli estratti vegetali si trovano tutti questi effetti insieme.

10.3.1. Problematiche applicative

A questi dati, così promettenti per la difesa ecocompatibile delle colture agrarie, non ha corrisposto, finora, un pari livello di interesse economico-applicativo. Le ragioni sono molteplici e coinvolgono motivazioni di carattere politico, economico e sociale.

Un fitofarmaco per essere definito tale ed essere prodotto e commercializzato deve soddisfare, principalmente, le seguenti condizioni:

BIOLOGICHE

- Bassa tossicità nei confronti dei vertebrati;
- Completa degradazione nell'ambiente;
- Selettività nei confronti dei nemici naturali e degli impollinatori;
- Assenza di fitotossicità.

PRATICHE

- Disponibilità della materia prima;
- Costi di produzione accettabili;
- Normalizzazione del processo produttivo;
- Protezione commerciale del prodotto (brevetto);
- Approvazione legale.

L'idea che si ha nei confronti dei prodotti naturali è che essi siano di loro natura innocui, cosa non necessariamente vera almeno che non venga dimostrata. Diversi prodotti di origine vegetale sono altamente tossici anche per gli animali omeotermi, giacché i bersagli della loro azione rappresentano meccanismi simili in tutti gli esseri viventi (es. blocco della catena del trasporto di elettroni a livello mitocondriale), mentre altri, nonostante potenzialmente tossici (es. rianodina), sono considerati innocui per i mammiferi alle dosi consigliate per l'uso. Pertanto, la loro tossicità può notevolmente variare, ma la loro persistenza è, di solito, breve per tutti (Isman, 1995). La maggior parte di queste molecole organiche, infatti, è termolabile e fotolabile (Lange, 1984; Barnby *et al.*, 1989); di conseguenza la loro persistenza all'aria aperta dura da poche ore a pochi giorni (Cabras *et al.*, 2002). Tuttavia un importante ruolo sulla persistenza di una sostanza sui/nei tessuti vegetali è svolto dalla sua capacità di penetrare rapidamente attraverso lo strato epicuticolare e fermarsi o superare quello cuticolare che riduce l'azione degradativa dei raggi ultravioletti (Riederer & Schreiber, 1995; Cabras *et al.*, 2002). La facile degradazione di queste sostanze, che tutt'oggi viene considerata da molti una proprietà negativa, potrebbe essere rivalutata nella strategia della difesa integrata. Una breve persistenza della sostanza tossica sulla coltura, infatti, potrebbe permettere il rapido ripopolamento dei nemici naturali, riducendo così gli effetti negativi che il principio di Volterra prevede per ogni agente che disturba l'equilibrio, di per sé precario, dell'agroecosistema.

Anche la selettività dei prodotti di origine vegetale nei confronti dei nemici naturali è molto varia. Così come per i fitofarmaci di sintesi, si può individuare una selettività fisiologica, attribuibile alla caratteristica della molecola di risultare nociva per il fitofago e non per il suo/i nemico/i naturale/i e una selettività secondaria che è la conseguenza della modalità di assunzione e di distribuzione del prodotto.

Si può, sino ad oggi, affermare che poche molecole organiche di origine vegetale, considerate singolarmente, posseggono una selettività fisiologica. D'altro canto, le notizie scientifiche sull'argomento sono scarse, a parte alcuni studi effettuati sulle azadirachtine (Stark *et al.*, 1992). La selettività degli estratti vegetali probabilmente è legata proprio alla caratteristica dell'azione sinergica di diverse molecole che presentano un'elevata attività biologica nei confronti di alcune specie di artropodi, mentre le singole molecole, potenzialmente tossiche per tutte le specie, non esplicano un'azione negativa su altre specie di artropodi.

nella quantità presente nella miscela. Diversi estratti di semi di *Azadirachta indica* A. Juss, ad esempio, hanno mostrato una forte attività biocida nei confronti di *Tetranychus urticae* Koch, mentre si sono dimostrati leggermente tossici od innocui, alle stesse concentrazioni, per il suo predatore obbligato *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot (Mansour et al., 1986). Simili risultati si sono ottenuti sullo stesso fitofago e su diverse specie di predatori fitoseidi utilizzando estratti di *Quassia* spp., *Melia azedarach* L. e *Artemisia absinthium* L. (Tsolakis et al., 1997; Ragusa et al., in corso di stampa).

Se, da una parte, le sostanze di origine vegetale soddisfano ampiamente i criteri biologici, specialmente sotto forma di miscele, dall'altra, non si può affermare lo stesso per i criteri pratici.

Sono, infatti, questi criteri, nella maggior parte dei casi, a costituire un ostacolo alla formulazione e commercializzazione dei fitofarmaci di origine vegetale.

La disponibilità quantitativa e temporale delle materie prime e i costi di produzione accettabili sono considerati i criteri fondamentali per lo sfruttamento industriale/economico di un prodotto. Questi, infatti, sono stati i principali motivi dell'affermazione, nella prima metà del secolo scorso, del piretro naturale e del rotenone, oltre che per le proprietà insetticide intrinseche dei prodotti. E per gli stessi motivi, principalmente, si sono affermati nella seconda metà del secolo scorso i fitofarmaci di sintesi. I resti della lavorazione del petrolio costituivano un'inesauribile fonte a basso costo per la formulazione di nuovi fitofarmaci. Materia prima la cui disponibilità, tra l'altro, era strettamente legata all'economia dei paesi industrializzati e, nonostante la dipendenza in gran parte dal terzo mondo, essendo l'offerta concentrata, garantiva un costante approvvigionamento e piccole oscillazioni nei costi. Al contrario, alle materie prime di origine vegetale, erano legate una serie di variabili che le rendevano man mano meno appetibili per lo sfruttamento industriale. La dipendenza dagli andamenti climatici delle produzioni, infatti, influenzava sia la quantità che la qualità del prodotto e di conseguenza non solo la disponibilità e i costi di produzione ma anche la normalizzazione del processo produttivo. A questi problemi si aggiungeva, inoltre, la stretta dipendenza dai paesi del terzo mondo e la forte frammentazione dell'offerta che, oltre a non garantire la disponibilità nel tempo, faceva lievitare i costi di produzione.

Oggi la situazione è cambiata e non solo per l'incertezza futura sulle riserve di petrolio ed il conseguente aumento dei prezzi ma anche, o soprattutto, per la maggiore sensibilità dell'opinione pubblica sui temi della salute umana e dell'ambiente.

I limiti su accennati per lo sfruttamento industriale dei fitofarmaci di origine vegetale rimangono in buona parte gli stessi. Le nuove tecnologie, certamente, hanno influenzato positivamente i processi di estrazione abbattendo i costi di produzione, ma rimane sempre il

problema della disponibilità quantitativa e temporale delle materie prime. D'altra parte i fitofarmaci di origine vegetale posseggono dei limiti intrinseci legati alla normalizzazione del processo produttivo. Come già accennato, questi prodotti sono composti da una miscela di sostanze ad azione sinergica. Se da una parte questa caratteristica costituisce un grande vantaggio evitando la formazione di ceppi resistenti (Feng & Isman, 1995), dall'altra è uno svantaggio per quel che riguarda la standardizzazione del processo produttivo ed il controllo di qualità. I fitofarmaci, sia di origine vegetale che di sintesi, per entrare nel mercato devono, per legge, contenere una determinata concentrazione dei principi attivi che ne assicurino l'efficacia dichiarata. Risulta, pertanto, abbastanza difficile standardizzare il processo produttivo per un prodotto che di principi attivi ne contiene da un minimo di 4-5 ad una quarantina! A ciò si aggiunge il fatto che la concentrazione delle sostanze attive nella materia prima è una variabile legata alle condizioni ambientali.

Questa caratteristica, d'altra parte, diventa uno svantaggio anche per quel che riguarda l'approvazione legale del prodotto nonché la protezione commerciale (brevetto). La legislazione per l'immissione in commercio dei fitofarmaci si è creata ed evoluta praticamente con l'industria agrochimica. Tutti i protocolli regolativi, in vigore oggi, sono stati sviluppati attorno alle sostanze di sintesi con un notevole grado di purezza chimica. Ogni fitofarmaco, per entrare nel mercato, deve avere l'autorizzazione per ogni singola sostanza che contiene e per la quale sono stati effettuati tutti gli esami previsti dai protocolli legislativi. Cercare di far passare al vaglio di questi protocolli un fitofarmaco di origine vegetale, costituito da una miscela di sostanze attive, risulta un'impresa alquanto ardua. Gli estratti vegetali che contengono forti concentrazioni di poche sostanze attive (1 o 2), come il piretro e il rotenone, riescono ad adattarsi abbastanza facilmente alle regole attuali, mentre quelli che ne contengono numerose hanno forti difficoltà a superare questi limiti. D'altra parte, mentre la sostanza creata ex novo in laboratorio può essere protetta da brevetto che permette l'esclusiva dell'azienda che lo detiene, non si può brevettare una sostanza presente in natura. È brevettabile la tecnica di estrazione e la quota dei vari componenti, ma entrambe le soluzioni non costituiscono una protezione invalicabile, tale da indurre le aziende ad affrontare i costi per l'ottenimento del brevetto.

A questi problemi se ne aggiunge un altro prettamente economico. I costi per lo studio di supporto per la registrazione di un fitofarmaco si aggira intorno a euro 300.000 ma potenzialmente potrebbe superare 1,5 milioni. È ovvio che un'azienda accetta di affrontare questi costi solo quando, oltre ad avere la sicurezza sull'efficacia del prodotto, ha delle ragionevoli possibilità di ottenerne la registrazione per poter entrare nel mercato. Questo potrebbe essere uno dei motivi per cui le multinazionali farmaceutiche non sono ancora apertamente interessate a questo settore

ed è certamente la ragione per cui molte aziende farmaceutiche medio-piccole del settore agricolo sono interessate ad occupare questa nicchia di mercato sperando ad un futuro ampliamento. Diventa, pertanto, proibitivo per queste aziende affrontare i costi per la registrazione di nuovi fitofarmaci di origine vegetale con la legislazione attuale.

In India hanno superato questo problema con una registrazione provvisoria di 2-5 anni, basata su una serie di prove di tossicità acuta in laboratorio e sulla fauna selvatica (Isman, 1997). Se i risultati sono favorevoli si concede una registrazione provvisoria che permette all'azienda di entrare nel mercato ed iniziare a recuperare i costi affrontati, con l'obbligo di fornire alle autorità, durante questo periodo, i risultati delle prove a lungo termine nonché altri dati riguardanti l'impatto sull'ambiente. In questo caso la registrazione definitiva o il suo rifiuto avviene al termine di questo periodo.

Negli USA si è sviluppata negli ultimi anni una certa elasticità nei confronti dei fitofarmaci considerati a basso rischio. Così, in presenza di una miscela di sostanze di origine vegetale, sono presi in considerazione solo i principali componenti mentre quelli secondari vengono considerati innocui.

In altri paesi occidentali è stata adottata la politica di incontri di consultazione pre-registrazione tra l'azienda farmaceutica e l'Autorità che concede la registrazione che mira ad una valutazione effettiva di ogni singolo caso con la possibilità di derogare la presentazione dei risultati di alcune prove previste per i prodotti di sintesi.

10.4. ESSENZE VEGETALI DI INTERESSE ECONOMICO

Sono riportate in letteratura oltre 2.000 specie vegetali contenenti sostanze con attività biologica nei confronti di numerosi organismi dannosi alle colture agrarie (Ahmed *et al.*, 1984), ma sono poche decine le essenze vegetali con caratteristiche promettenti per quel che riguarda lo sviluppo di fitofarmaci.

Considerando la serie dei criteri biologici e pratici sopra citati, si riportano di seguito alcune essenze vegetali che sono presenti nel territorio italiano o facilmente reperibili e potrebbero, quindi, fornire la materia prima per la costituzione di fitofarmaci di origine vegetale.

10.4.1. *Annona* spp.

La polvere di semi di diverse specie di *Annona* veniva adoperata come insetticida tradizionale in varie regioni tropicali (Isman, 1995). Da studi effettuati sugli effetti delle anonacee nei confronti degli artropodi dannosi si sa, ad esempio che la polvere di semi di annona ha un lungo effetto repellente, almeno 100 giorni, nei confronti di *Callosobruchus maculatus* F. (Pandey & Varma, 1978). Estratti di foglie di *Annona*

squamosa hanno mostrato una forte azione fagodeterrente nei confronti di alcuni lepidotteri (Kulkarni *et al.*, 2003), mentre su altri bloccano lo sviluppo larvale (Ohsawa *et al.*, 1991; Leatemia & Isman, 2004). Estratti acquosi ed acetonici di semi di *Annona cherimola* hanno mostrato una forte azione biocida nei confronti dei vari stadi dello sviluppo ontogenetico di *T. urticae*, ma anche nei confronti del fitoseide predatore *Cydnodromus californicus* (McGregor) (Ragusa *et al.*, in corso di stampa).

Le proprietà insetticide di questo gruppo di piante, è stata inizialmente attribuita ad una serie di alcaloidi (benzilisochinolini) (Jacobson & Crosby, 1971), ma successivamente è stato dimostrato che i principi attivi delle anonacee sono attribuibili alle acetogenine (Jolad *et al.*, 1982). Questi composti, sin dalla loro scoperta, costituiscono una classe di prodotti bioattivi naturali di grande interesse. Chimicamente sono delle lunghe catene di acidi grassi e biologicamente tra i più potenti inibitori specifici del complesso I nel sistema del trasporto elettronico mitocondriale e del NADH-citocromo c-reduttasi della membrana citoplasmatica (Londershausen *et al.*, 1991; Barrachina *et al.*, 2004). Queste azioni provocano l'apoptosi (cioè la morte programmata della cellula) forse a causa del blocco dell'ATP. L'applicazione di queste sostanze come insetticide o antitumorali offre oggi grandi potenzialità, specialmente per contrastare alcuni meccanismi di resistenza che richiedono, per l'eliminazione dalla cellula dei residui dannosi, l'aiuto dell'ATP (McLaughlin *et al.*, 1997).

Il meccanismo d'azione è simile a quello conosciuto per il rotenone anche se l'azione inibitoria delle acetogenine risulta più forte e non si limita solo ai mitocondri degli artropodi ma anche dei mammiferi (Londershausen *et al.*, 1991). Questa caratteristica potrebbe spiegare il ritardato interesse delle aziende fitofarmaceutiche per questi composti anche se esistono casi di insetticidi, a base di acetogenine, già brevettati (Mikolajczak *et al.*, 1988).

D'altra parte non ci sarebbero problemi di disponibilità della materia prima (semi) giacché la coltura delle varie anonacee è diffusa in molti paesi. In Italia la specie è presente in Calabria ed in Sicilia anche se, a causa di problemi legati all'impollinazione ed in parte per problemi commerciali la coltivazione di questa essenza stenta a diffondersi (Caleca *et al.*, 2002). D'altra parte questa coltura è molto diffusa in Indonesia, dove l'industria dei succhi di frutta produce annualmente tonnellate di semi di scarto (Isman, 1995), nelle Filippine, in Cile, in Israele ed in Spagna (Schroeder, 1971; Farrè Massip, 1993; Gazit *et al.*, 1982; Vargas-Mesina, com. pers.).

10.4.2. *Melia azedarach* L.

Specie appartenente alla famiglia Meliaceae, è originaria della parte nord-occidentale dell'India. E' diventata cosmopolita per la sua

plasticità nell'adattarsi nei climi temperati e la sua particolare velocità di crescita. È presente in tutto il bacino del Mediterraneo e viene, spesso, utilizzata per alberare i viali dei centri abitati.

I semi di *Melia* contengono una grande quantità di terpenoidi e limonoidi alcuni dei quali, come le meliacarpine di recente scoperta, hanno dimostrato un'attività insetticida e di controllo della crescita paragonabile a quella dimostrata dai limonoidi presenti nella più nota *A. indica* (Bohnenstengel *et al.*, 1999). Altri limonoidi, invece, hanno mostrato un'interessante azione fagodeterrente (Huang *et al.*, 1995). Oltre all'azione insetticida, gli estratti acquosi ed acetonicici di semi di *M. azedarach* provenienti dalla Sicilia, hanno mostrato anche una buona azione acaricida, nei confronti di *T. urticae*, mentre hanno avuto un'azione meno tossica nei confronti di alcune specie di fitoseidi (Ragusa *et al.*, in corso di stampa). D'altra parte la selettività di questi estratti è stata riportata anche per altri nemici naturali come il braconide *Cotesia plutellae* (Kurdjumov) e l'icneumonide *Diadromus collaris* (Gravenhorst) (Charleston *et al.*, 2005).

La capacità di questa pianta di adattarsi in condizioni pedo-climatiche marginali, la renderebbe una buona candidata per la valorizzazione di vaste aree marginali del meridione, creando, tra l'altro, i presupposti per una futura valorizzazione commerciale dei semi che abbondantemente produce.

10.4.3. *Artemisia* spp.

Questo genere appartenente alla famiglia Compositae comprende diverse specie erbacee presenti in varie zone della terra. Le specie, tuttavia, più conosciute sono *Artemisia absinthium* L. e *Artemisia annua* L. La prima per le note proprietà vermifughe attribuitegli dalla medicina popolare e dalla famosa, nell'ottocento, bevanda ottenuta dalla macerazione dei capolini nell'acquavite e la seconda per le sue proprietà officinali note ai cinesi dai tempi antichi e per la recente scoperta di principi attivi con proprietà antimalariche (Van Geldre *et al.*, 1997; Statistics Division of the United Nations, 2002).

Gli estratti di assenzio hanno mostrato un'attività fagodeterrente nei confronti di *Cydia pomonella* (L.) (Suomi *et al.*, 1986), mentre nei confronti di *T. urticae* hanno causato una moderata mortalità (Tsolakis *et al.*, 1997; Chiasson *et al.*, 2001) ed un'interessante azione repellente (Ragusa *et al.*, in corso di stampa). D'altra parte la polvere di *Artemisia* sp. si è mostrata molto efficace nel controllo di *Acarapis woodi* (Rennie) e nel contempo non ha mostrato effetti negativi sull'ape (Abu-Zaid & Salem, 1991). Attività acaricida nei confronti di acari parassiti ha mostrato anche l'olio essenziale di *A. absinthium* nei confronti di *Dermanyssus gallinae* De Geer (Kim *et al.*, 2004).

Sono stati segnalati, inoltre, nuovi lignani provenienti da *Artemisia sieversiana* Ehrhart ex Willd con attività fungicida (Tan *et al.*, 1998)

mentre l'artemisina, un componente attivo in *A. annua* è considerato un potente agente di controllo del plasmodio della malaria specialmente per i ceppi resistenti ai farmaci convenzionali (Van Geldre *et al.*, 1997). Le su accennate specie di *Artemisia* sono attualmente coltivate in diverse parti del mondo (Italia, Ungheria, Bulgaria, Cina), anche se la quantità di materia prima viene considerata attualmente insufficiente per un utilizzo industriale nel campo farmacologico e fitofarmaceutico (Van Geldre *et al.*, 1997; Statistics Division of the United Nations, 2002).

10.4.4. *Citrus* spp.

I limonoidi sono un gruppo di triterpenoidi comuni nelle Rutaceae e Meliaceae. All'interno della famiglia Rutaceae sono stati segnalati 36 limonoidi agliconi e 17 limonoidi glucosidi per le varie specie del genere *Citrus* e loro ibridi (Fong *et al.*, 1989). Fino alla fine degli anni Settanta l'interesse nei loro confronti era legato alle proprietà negative (retrogusto amaro) che queste sostanze conferivano ai succhi di frutta. La tipologia dell'interesse verso questi limonoidi è cambiata dopo la scoperta delle proprietà insetticide dei terpenoidi presenti in *A. indica*, ma soprattutto dopo la scoperta delle proprietà antitumorali della limonina e di altri limonoidi delle rutacee (Klocke & Kubo, 1982; Alford *et al.*, 1987; Lam & Hasegawa, 1989; Miller *et al.*, 1989).

A partire dagli anni ottanta l'attività scientifica sui limonoidi ed in particolare su limonina, nomilina e obacunone, che rappresentano i principali metaboliti secondari presenti nei semi degli agrumi, ha portato alla nostra conoscenza le interessanti proprietà fagoderrenti, repellenti, IGR e tossiche nei confronti di diverse specie di insetti (Klocke & Kubo, 1982; Alford *et al.*, 1987; Bentley *et al.*, 1988; Mendel *et al.*, 1991; Jayaprakash *et al.*, 1997; Murray *et al.*, 1999).

Dal punto di vista dello sfruttamento industriale queste sostanze sembrano le più promettenti per la grande quantità di materia prima, rappresentata dai prodotti di scarto dell'industria dei succhi di agrumi (pompelmo, arancia, mandarino, limone). Nei primi anni Ottanta si stimava negli USA una produzione annuale di limonoidi di circa 300 tonnellate, estratti dagli scarti dell'industria dei succhi a base di pompelmo (Klocke & Kubo, 1982).

10.5. CONSIDERAZIONI

La riconsiderazione della difesa chimica delle colture agrarie dai loro parassiti è la principale direttiva lungo la quale si muove oggi la ricerca e la politica agricola nel mondo occidentale. L'uso dei metaboliti secondari delle piante nella difesa degli agroecosistemi può rappresentare, quindi, una nuova tecnica di controllo delle popolazioni

dei fitofagi perfettamente integrata con le altre tecniche ecocompatibili di difesa nel rispetto dei principi ecologici, tossicologici ed economici che definiscono il controllo integrato.

L'uso di questi composti come mezzi di difesa, inoltre, apre nuove prospettive di sviluppo sia per i paesi del terzo mondo che per le zone economicamente depresse del mondo occidentale, giacché la produzione agricola non rappresenta più in quest'ultimo il raggiungimento del bene primario della nutrizione e non può rappresentare solo quello nei paesi del terzo mondo.

10.6. AUTORI CITATI

- ABU-ZAID M.I., SALEM M.M. - 1991 - Evaluation of certain dosages of wormwood as bioactive agent against the acarine mite, *Acarapis woodi* (Rennie). - *Bull. Ent. Soc. Egypt, Econ. Ser.*, 17: 121-125.
- AHMED S., GRAINGE M., HYLIN J.W., MITCHEL W.C., LITSINGER J.A. - 1984 - Some promising plant species for use and pest control agents under traditional farming systems. - *In: Schmutterer H. & Ascher K.R.S. (eds) "Natural pesticides from the neem tree (Azadirachta indica A. Juss) and other tropical plants", Proc. 2nd Int. Neem Conf., Rauischholzhausen 25-28 May 1983*, 565-580.
- ALFORD A.R., CULLEN J.A., STORCH R.H., BENTLEY M.D. - 1987 - Antifeedant activity of limonin against the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). - *J. Econ. Ent.* 80: 575-578.
- ANGELI G., FORTI D., MAINES R. - 2000 - Side - effects of eleven insect growth regulators on the predatory bug *Orius laevigatus* Fieber (Heteroptera: Anthoridae). - *IOBC WRSP Bulletin* 23 (9): 85 - 92.
- BARNBY M.A., YAMASAKY R.B., KLOCKE J.A. - 1989 - Biological activity of azadirachtin [from *Azadirachta indica*], three derivatives, and their ultraviolet radiation degradation products against tobacco budworm (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. - *J. Econ. Ent.*, 82 (1): 58-63.
- BARRACHINA I., NESKE A., GRANELL S., BERMEJO A., CHAHBOUNE N., EL-AOUAD N., ALVAREZ O., BARDON A., ZAFRA-POLO M.C. - 2004 - Tucumanin, a beta -hydroxy-gamma -lactone bistetrahydrofuranic acetogenin from *Annona cherimolia*, is a potent inhibitor of mitochondrial complex I. - *Planta Medica*, 70 (9): 866-868.
- BENHAM G.S. - 1974 - A synopsis of the obligate and facultative insect parasitic nematodes. - *J. Invertebr. Path.*, 24 (3): 263-270.
- BENTLEY M.D., RAJAB M. S., ALFORD A. R., MENDEL M. J., HASSANALI A. - 1988 - Structure-activity studies of modified citrus limonoids as antifeedants for Colorado potato beetle larvae, *Leptinotarsa decemlineata*. - *Ent. Exp. Appl.*, 49: 189-193.
- BERENBAUM M. - 1985 - Brementown revisited: interactions among allelochemicals in plants. - *Recent Adv. Phytochem.*, 19: 139-169.
- BOEKE S.J., BAUMGART I.R., VAN LOON J.J.A., VAN HUIS A., DICKE M., KOSSOU D.K. - 2004 - Toxicity and repellence of African plants traditionally used for the protection of stored cowpea against *Callosobruchus maculatus*. - *J. Stored Prod. Res.*, 40: 423-438
- BOHNENSTENGEL F.I., WRAY V., WITTE L., SRIVASTAVA R.P., PROKSCH P. - 1999 - Insecticidal meliacarpins (C-seco limonoids) from *Melia azedarach*. - *Phytochemistry* 50: 977-982
- BORTOLOTTI L., NANNI C., PORRINI C., SBRENNI G., G. CELLI - 1999 - Effetti di Fenoxycarb su larve di *Chrysoperla carnea*. - *Inf.tore Fitopatol.*, 49 (4): 48-52.

- BRADER L. - 1977 - Resistance in mites and insects affecting orchard crops.- In: Watson D.L. & Brown A.W. (eds) "Pesticide management and insecticide resistance", Academic Press: 353-376.
- BROWN A.W.A. - 1974 - The safety of biological agents for arthropod control. - *Int. Pest Contr.*, 16 (4): 13-16.
- CABRAS P., CABONI P., CABRAS M., ANGIONI A., RUSSO M. - 2002 - Rotenone Residues on Olives and in Olive Oil. - *J. Agric. Food Chem.*, 50: 2576-2580.
- CALECA V., LO VERDE G., RAGUSA S., TSOLAKIS H. - 2002 - Insect and hand pollination of *Annona* spp. in Sicily. - *Phytophaga*, 12: 117-127.
- CHAPMAN R.F. - 1974 - Chemical inhibition of feeding by phytophagous insects - a review. - *Bull. Ent. Res.*, 64:339-363.
- CHARLESTON D.S., KFIR R., DICKE M., VET L.E.M. - 2005 - Impact of botanical pesticides derived from *Melia azedarach* and *Azadirachta indica* on the biology of two parasitoid species of the diamondback moth. - *Biol. Contr.*, 33: 131-142.
- CHIASSON H., BÉLANGER A., BOSTANIAN N., VINCENT C., POLIQUIN A. - 2001 - Acaricidal properties of *Artemisia absinthium* and *Tanacetum vulgare* (Asteraceae) essential oils obtained by three methods of extraction. - *J. Econ. Ent.*, 94 (1): 167-171.
- COULIBALY O., MBILA D., SONWA D.J., ADESINA A., BAKALA J. - 2002 - Responding to economic crisis in sub-Saharan Africa: New farmer-developed pest management strategies in cocoa-based plantations in Southern Cameroon. - *Integr. Pest Manag. Rev.*, 7: 165-172.
- CROSBY D.G. - 1971 - Minor insecticides of plant origin. - Marcel Dekker Inc., New York, 1-589.
- DE CUPERE F., VANDEBROEK I., PUENTES M., TORRES S., VAN DAMME P. - 2001 - Evaluation of vegetal extracts as biological herbi- and pesticides for their use in Cuban agriculture. - *Med. Rijks. Gent Fak Landb. Toeg. Biol. Wet.*, 66 (2a): 455-62.
- FARRÈ MASSIP J.M. - 1993 - I fruttiferi tropicali e subtropicali nella Spagna mediterranea.- *Inf. tore agrario* 1: 23-28.
- FENG R., ISMAN M.B. - 1995 - Selection for resistance to azadirachtin in the green peach aphid *Myzus persicae*. - *Experientia*, 51: 831-833.
- FONG C.H., HASEGAWA S., HERMAN Z., OU P. - 1989 - Limonoid glucosides in commercial citrus juices.- *J. Food Sci.*, 54: 1505-1506.
- GANG D.R., DINKOVA-KOSTOVA A.T., DAVIN L.B., LEWIS N.G. - 1997 - Phylogenetic links in plant defence systems: Lignans, Isoflavonoids, and their reductases. - In: Hedin P.A., Hollingworth R.M., Masler E.P., Miyamoto J., Thompson G. (eds) "Phytochemicals for pest control", *American Chemical Society*: 58-89.
- GAZIT S., GALON I., PODOLER H. - 1982 - The role of Nitidulid beetles in natural pollination of *Annona* in Israel. - *J. Amer. Soc. Ort. Sci.*, 107 (5): 849-852.
- HASSAN S.A, BIGLER, F., BOGENSCHÜTZ H., BOLLER E., BRUN J., CALIS J.N.M., CHIVERTON P., COREMANS-PELSENEER J., DUSO C., LEWIS G., MANSOUR F., MORETH L., OOMEN P.A., OVERMER W.P.J., POLGAR L., RIECKMAN W., SAMSOE-PETERSEN L., STÄUBLI A., STERK G., TAVARES K., TUSET J.J., VIGGIANI G. - 1991- Results of the fifth joint pesticide testing programme, IOBC/WPRS - Working Group "Pesticide and Beneficial Organisms". - *Entomophaga*, 36 (1): 5 -67.
- HEDIN P.A., HOLLINGWORTH R.M., MASLER E.P., MIYAMOTO J., THOMPSON G. - 1997 - Phytochemicals for pest control. - *Am. Chem. Soc.*, 1-358.
- HUANG R.C., OKAMURA H., IWAGAWA T., TADERA K., NAKATANI M. - 1995 - Azedarachin C, a limonoid antifeedant from *Melia azedarach*. - *Phytochemistry*, 38 (3): 593-594.
- ISMAN M.B. - 1997 - Neem and other botanical insecticides: barriers to commercialization. - *Phytoparasitica*, 25 (4): 339-344.
- ISMAN M.B., ARNASON J.T., TOWERS G.H.N. - 1995 - Chemistry and biological activity of ingredients of other species of Meliaceae. - In: Schmutterer H. (ed) "The neem tree *Azadirachta indica* A. Juss and Other Meliaceous plants. Sources of Unique Natural Products for Integrated Pest Management, Medicine, Industry and Other purposes", VCH, Weinheim, Germany: 652-666.

- JACOBSON M., CROSBY D.G. - 1971 - Naturally occurring insecticides. - Marcel Dekker Inc., New York, 1-589.
- JAYAPRAKASHA G.K., SINGH R.P., PEREIRA J., SAKARIAH K.K. - 1997 - Limonoids from *Citrus reticulata* and their activity in mosquito *Culex quinquefasciatus* larvae. - *Phytochemistry*, 44 (5): 843-846.
- JOLAD S.D., HOFFMANN J.J., SCHRAM K.H., COLE J.R., TEMPESTA M.S., KREIK G.R., BATES R.B. - 1982 - J. Org. Chem., 47: 3151-3153.
- KILGORE W.W., CROSBY D.G., CRAIGMILL A.L., POPPEN NK. - 1981 - Toxic plants as possible human teratogens. - *California Agric.*, 35: 11-12
- KIM S.I., YI J.H., TAK J., AHN Y.J., - 2004 - Acaricidal activity of plant essential oils against *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). - *Veterinary Parasitol.*, 120: 297-304
- KLOCKE J.A., KUBO I. - 1982 - Citrus limonoid by-products as insect control agents. - *Ent. Exp. Appl.*, 32: 299-301.
- KULKARNI N., JOSHI K.C., SHUKLA P.K. - 2003 - Antifeedant activity of *Annona squamosa* Linn. against *Crypsiptera coclesalis* Walker (Lepidoptera: Pyralidae). - *Entomon*, 28 (4): 389-392.
- LAM L. K. T., HASEGAWA S. - 1989 - Inhibition of benzo[a]pyreneinduced forestomach neoplasia in mice by citrus limonoids. - *Nutrition and Cancer*, 12: 43-47.
- LANGE W. - 1984 - Piperonyl butoxide: synergistic effects on different neem seed extracts and influence on degradation of an enriched extract by ultra-violet light. - In: Schmutterer H., Ascher K.R.S. (eds) "Natural pesticides from the neem tree and other tropical plants", *Proc. 2nd Int. Neem Conf., Rauischholzhausen 25-28 May 1983*, 129-140.
- LEATEMIA J.A., ISMAN M.B. - 2004 - Insecticidal activity of crude seed extracts of *Annona* spp., *Lansium domesticum* and *Sandoricum koetjape* against lepidopteran larvae. - *Phytoparasitica*, 32 (1): 30-37.
- LONDERSHAUSEN M., LEICHT W., LIEB F., MOESCHLER H. - 1991 - Molecular mode of action of annonins. - *Pesticide Science*, 33 (4): 427-438.
- MANSOUR F., RAVID U., PUTIEVSKY E. - 1986 - Studies of the effects of essential oils isolated from 14 species of Labiatae on the carmine spider mite, *Tetranychus cinnabarinus*. - *Phytoparasitica*, 14 (2): 137-142.
- MC EWEN F.L. - 1977 - Pesticide residues and agricultural workers – An overview. - In: Pesticide management and insecticide resistance. - In: Watson D.L. & Brown A.W. (eds), *Academic Press*: 37-49.
- MCLAUGHLIN J.L., ZENG L., OBERLIES N.H., ALFONSO D., JOHNSON H.A., CUMMINGS B.A. - 1997 - Annonaceous acetogenins as a new natural pesticides: recent progress. - In: "Phytochemicals for pest control", Hedin P.A., Hollingworth R.M., Masler E.P., Miyamoto J., Thompson D.G. (eds), *American Chemical Society*: 117-133.
- MENDEL Z., BLUMBERG D., ISHAAYA I. - 1994 - Effects of some insect growth regulators on natural enemies of scale insects (Hom: Coccoidea). - *Entomophaga* 39 (2): 199-209.
- MENDEL M.J., ALFORD A.R., BENTLEY M.D. - 1991 - A comparison of the effects of limonin on Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*, and fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*, larval feeding. - *Ent. Exp. Appl.*, 58: 191-194.
- MERZ F. - 1987 - Aphids grin at biological preparations. - *Gb & Gw*, 87 (46): 1726.
- MIKOLAJCZAK K.L., MCLAUGHLIN J.L., RUPPRECHT J.K. - 1988 - Control of pest with Annonaceous Acetogenins. - U.S. Patent n° 4721727.
- MILLER E.G., FANOUS R., RIVERA-HIDALGO F., BINNIE W.H., HASEGAWA S., LAM L.K.T. - 1989 - The effect of citrus limonoids on hamster buccal pouch carcinogenesis. - *Carcinogenesis*, 10: 1535-1537.
- MUCCINELLI M. - 1990 - Prontuario dei fitofarmaci. - *Edizioni Agricole della Calderini s.r.l., Bologna*, 1-696.
- MUCCINELLI M. - 2004 - Prontuario dei fitofarmaci. - *Edagricole-Edizioni Agricole della Calderini s.r.l., Bologna*, 1-1066.

- MURPHY S.D. - 1986 - Toxic effects of pesticidae. - *In: Casarett and Doull's toxicology. MacMillan, New York*: 519-581.
- MURRAY K. D., HASEGAWA S., ALFORD A.R. - 1999 - Antifeedant activity of citrus limonoids against Colorado potato beetle: comparison of aglycones and glucosides. - *Ent. Exp. Appl.*, 92: 331-334.
- ONILLON J.C. - 1974 - Study of the population dynamics of citrus Homoptera. First observations on the biological control of *Aleurothrixus floccosus* (Aleurodidae) by *Cales noacki* (Aphelinidae). - *Fruits.*, 29: 4, 291-295.
- PANDEY G.P., VARMA B.K. - 1978 - Anona (custard apple) seed powder as a protectant of mung against pulse beetle, *Callosobruchus maculatus* (Fabr.). - *Bull. Grain Techn.*, 15 (2): 100-104.
- RAGUSA DI CHIARA S., TSOLAKIS H., RAGUSA E., ALONZO G., SAIANO F. - 2002 - Effects of some botanical pesticides on *Tetranychus urticae* Koch (Acariformes, Tetranychidae) and its predator *Cydnodromus californicus* (McGregor) (Parasitiformes, Phytoseiidae) in laboratory trials. - *XI Int. Congr. Acarology, Merida, Yucatan 8-13 sep 2002* (in press)
- RIEDERER M., SCHREIBER L. - 1995 - Waxes: The transport barriers of plant cuticles. - *In: Hamilton R.J. (ed.) "Waxes: Chemistry, Molecular Biology and Functions", The Oily Press, Dundee, Scotland*, 6: 131-156.
- ROARK R.C. - 1947 - Insecticidal and fish poisoning plant. - *Econ. Bot.*, 1: 437-445.
- SCHROEDER C.A. - 1971 - Pollination of Cherimoya. - *Calif. Avocado Soc. Yearbook*, 54:119-122.
- SPEAR R.C., JANKINS D.L., MILBY T.H. - 1975 - Pesticide residues and field workers. - *Environ. Sci. Technol.*, 9: 308-313.
- STARK J.D., WONG T.T.Y., VARGAS R.I., THALMAN R.K. - 1992 - Survival, longevity and reproduction of tephritid fruit fly parasitoids (Hymenoptera: Braconidae) reared from fruit flies exposed to azadirachtin. - *J. Econ. Ent.*, 84 (4): 1125-1129.
- SUOMI, D., BROWN J.J., AKRE R.D. - 1986 - Responses to plant extracts of neonatal codling moth larvae, *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae: Olethreutinae). - *J. Ent. Soc. British Columbia*, 83: 12-18.
- TAN R.X., TANG H.Q., HU J., SHUAI B. - 1998 - Lignans and sesquiterpene lactones from *Artemisia sieversiana* and *Inula racemosa*. - *Phytochemistry*, 49 (1): 157-161.
- TSOLAKIS H., LETO G., RAGUSA S. - 1997 - Effects of some plant materials on *Tetranychus urticae* Koch (Acariformes, Tetranychidae) and *Typhlodromus exhilaratus* Ragusa (Parasitiformes, Phytoseiidae). - *ANPP Fourth Int. Conf. Pests Agric. Montpellier 6-7-8 Jan. 1997*: 239-245.
- VAN GELDRE E., VERGAUWE A., VAN DEN EECKHOUT E. - 1997 - State of the art of the production of the antimalarial compound artemisinin in plants. - *Plant Molec. Biol.*, 33: 199-209.
- VIGGIANI G., LOIA M. - 1991 - I rischi della lotta agli insetti dannosi con i regolatori di crescita. - *Inf. tore agr.*, 47: 67-69.
- VIGGIANI G., IANNACCONE F. - 1972-1973 - Observations on the biology and on the parasites of the Diaspini *Chrysomphalus dictyospermi* (Morg.) and *Lepidosaphes beckii* (Newm.) carried out in Campania in the three-year period 1969-1971. - *Boll. Lab. Ent. Agr. Filippo-Silvestri-Portici.*, 30: 104-116.
- WINK M. - 1993 - Production and application of phytochemicals from an agricultural perspective. - *In: van Beek T.A. & Breteler H. (eds), "Phytochemistry and Agriculture", Clarendon Press, Oxford, UK*: 171-213.

La difesa della vite dagli artropodi dannosi / a cura di S. Ragusa, H. Tsolakis. -
Palermo : Università degli studi di Palermo, 2006.

1. Parassiti della vite - Congressi – 2005.

2. Congressi Marsala – 2005.

I. Ragusa, Salvatore <1941->.

II. Tsolakis, Haralabos <1964->.

634.82 CDD-21 SBN Pal0204611

CIP - *Biblioteca centrale della Regione siciliana "Alberto Bombace"*